

GENETISCHE KOPPLUNG VON NIEDRIGEN
SERUMKONZENTRATIONEN DER
KOMPLEMENTKOMPONENTEN C2 und C4
MIT DEM HLA-Dw2 ALLEL
BEI GESUNDEN UNVERWANDTEN PERSONEN

Christoph NERL

1480

Dissertations- und Fotodruck ANNELIESE SCHUBERT
Corneliusstraße 21 · 8000 München 5 · Telefon 268177

Aus dem Institut für Immunologie der

Universität München

Vorstand: Prof.Dr.med. G. Riethmüller

Genetische Kopplung von niedrigen

Serumkonzentrationen der

Komplementkomponenten C2 und C4

mit dem HLA-Dw2 Allel

bei gesunden unverwandten Personen

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin

an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Christoph Nerl

aus

Landsberg/Lech

München 1980

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof.Dr.med. G. Riethmüller

Dekan: Prof.Dr.med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 3.7.1980



Für Claudia



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548319_0015

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A	Einleitung
B	Schematische Darstellung des klassischen Weges der Komplementaktivierung
C	Genkarte des menschlichen Chromosoms No.6
D	Material und Methoden
	Serumproben
	C2-Bestimmung
	C4-Bestimmung
	HLA-Typisierungen
	Statistische Auswertung
E	Ergebnisse
	C2-Bestimmungen
	C4-Bestimmungen
	HLA-A und HLA-B Analyse
	Abb.1: Verteilung der C2 Serumspiegel
	Abb.2: Verteilung der C4 Serumspiegel
	Abb.3: Vergleich erste und zweite Blutung
	Abb.4: Korrelation von C2 und C4 Spiegeln
	Tab.1: Zusammenstellung der Ergebnisse
	Tab.2: HLA-A Frequenzen n. C2-Bestimmung
	Tab.3: HLA-B Frequenzen n. C2-Bestimmung
	Tab.4: HLA-A Frequenzen n. C4-Bestimmung
	Tab.5: HLA-B Frequenzen n. C4-Bestimmung
F	Diskussion
G	Zusammenfassung
H	Literatur
I	Danksagung
K	Lebenslauf

A Einleitung

Die verschiedenen immunologischen Mechanismen, mit denen sich der menschliche Organismus gegen Bakterien, Viren und Pilze zur Wehr setzt, kann man in zwei große Systeme einteilen. Das eine Abwehrsystem umfaßt die zelluläre Immunität, das andere dient der humoralen Immunität.

Dabei sind im Serum gelöste Substanzen, wie Antikörper und Enzyme, die Mediatoren der Immunreaktionen. Sowohl die zellulären wie auch die humoralen Mechanismen richten sich nicht nur gegen eingedrungene pathogene Mikroorganismen, sondern auch gegen Transplantate und maligne Tumoren.

Ein wichtiger Teil der humoralen Abwehr ist das Komplementsystem, eine Gruppe von Serumproteinen, in der Mehrzahl zur β -Globulinfraction gehörend, das zusammen mit Antikörpern und anderen Faktoren, eine wichtige Mediatorfunktion bei allergischen und immunologischen Reaktionen hat.

Nach der Bildung des Antigen - Antikörperkomplexes, das heißt der als "fremd" Erkennung der eindringenden Zellen, wird die Komplementkaskade in Gang gesetzt und die fremde Zelle zerstört. Die Komplementkaskade setzt sich aus 18 verschiedenen Komponenten (Aktivatoren, Inhibitoren und Inaktivatoren) zusammen, davon 11, die zum "klassischen Reaktionsweg" (Classical Pathway) der Komplementaktivierung gehören.

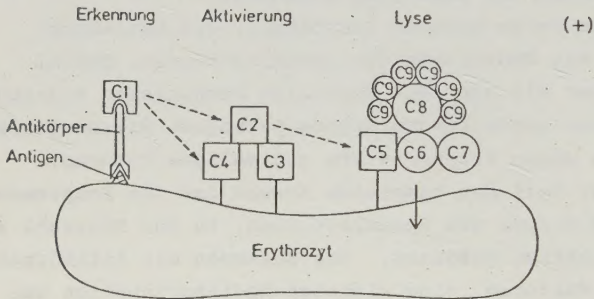
Zusammenfassend kann man die Wirkung des aktivierten Komplements durch folgende Vorgänge beschreiben:

Lyse von Erythrozyten und kernhaltigen Zellen (Immunhämolyse, siehe Abb.), Lyse von Bakterien (Bakteriolyse), Freisetzung von Histamin aus Mastzellen und glatten Muskelzellen durch Anaphylatoxine, Opsonisierung von Partikeln zur Phagozytose, Bildung chemotaktischer Faktoren, und schließlich Bildung von Substanzen mit Kinin-ähnlicher Aktivität.

B

Komplementsystem

Schematische Darstellung der Aktivierung des klassischen Weges der Komplementaktivierung am Beispiel der Erythrozytenlyse.



n. G.Valet, Habilitationsschrift, München, 1974

Nach Fixierung des Antikörpermoleküls an das Antigen erkennt das C1-Molekül den Antigen-Antikörperkomplex, bindet sich an diesen, wird enzymatisch aktiv, und aktiviert seine natürlichen Substrate C2 und C4. Danach läuft die Komplementkaskade bis C9 ab, sie endet mit der Lyse des Erythrozyten.

- (+) ☐ Komponenten bei denen eine Aktivierung nachgewiesen ist.
- ☐ Komponenten bei denen keine Aktivierung bekannt ist.

Genetische Defekte von verschiedenen Komponenten des Komplementsystems wurden zuerst bei Tieren (40, 9, 32) und dann auch beim Menschen entdeckt.

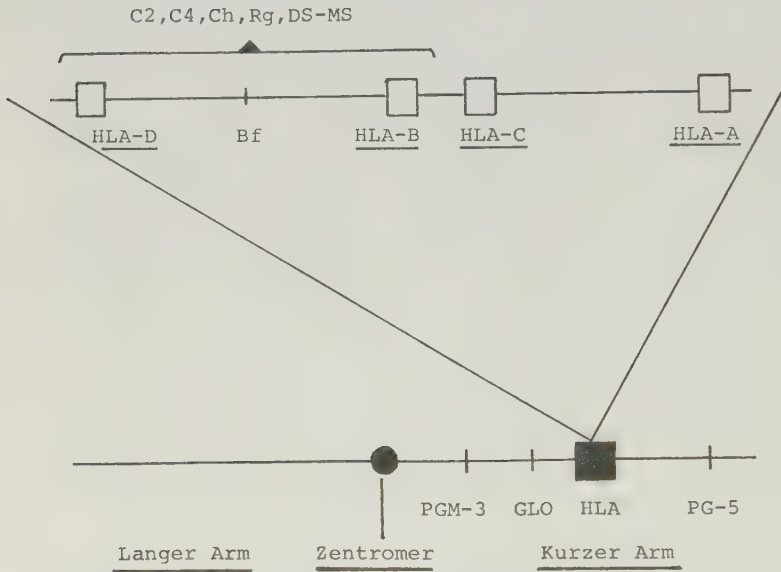
In der Folgezeit wurden vererbte Defekte von allen klassischen Komplementkomponenten mit Ausnahme des C1q und des C9 beschrieben.

Der beim Menschen am häufigsten beschriebene Defekt ist der der zweiten Komplementkomponente (C2). Seit der ersten Beschreibung eines derartigen Falles im Jahre 1960 durch Silverstein (55) wurden in der Folgezeit eine ganze Reihe von homozygoten ($C2^O/C2^O$) und heterozygoten ($C2^O/C2$) C2-Defekten in Verbindung mit Lupus erythematoses (SLE), Dermatomyositis, verschiedenen Formen von Vaskulitis, anaphylaktoider Purpura (Schönlein-Henoch), und Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises beschrieben (33, 34, 10, 3, 12, 56, 61, 48, 36, 23, 18, 20, 25, 16, 47).

Fu et al. (20, 21, 22) und Day et al. (13) beschrieben als erste die Assoziation von angeborenem C2-Defekt und Genen des HLA-Komplexes beim Menschen (Major Histocompatibility Complex = MHC des Menschen), lokalisiert auf dem kurzen Arm des Chromosoms No. 6 (siehe Abb.).

Ihre Beobachtung, daß das C2-Defektgen ($C2^O$) mit dem Haplotyp HLA-A10,B18 segregierte, konnte auch von anderen Autoren bestätigt werden (19, 62, 63, 24).

In weitergehenden Studien konnte zuerst von Fu et al. (21, 22) gezeigt werden, daß neben der Assoziation mit den HLA-A,B Antigenen auch eine Kopplung mit einem HLA-D Allel, nämlich HLA-Dw2, bestand. Auch diese Kopplung konnte von verschiedenen anderen Autoren bestätigt werden (19, 14, 29). In allen diesen Fällen lagen die C2 Serumproteinspiegel der homozygot defekten Personen unter 5% der Norm, die der Heterozygoten bei 30 - 60%.

C Genkarte des menschlichen Chromosoms No.6

- C2 = Komplementkomponente C2
 C4 = Komplementkomponente C4
 Ch = Chido (Blutgruppe; Bestandteil von C4)
 Rg = Rodgers (Blutgruppe; Bestandteil von C4)
 DS-MS = Disease Susceptibility für Multiple Sklerose
 HLA = Haupt-Histokompatibilitäts-Komplex (MHC)
 HLA-A, -B, -C, -D = 4 Loci des HLA-Komplexes
 Bf = Properdinfaktor B = C3-Proaktivator
 PGM-3 = Phosphoglucomutase-3 (Isoenzym)
 GLO = Glyoxalase
 PG-5 = Harn-Pepsinogen-5

Ein vollständiger Mangel der vierten Komplementkomponente (C4) wurde erstmals von Hauptmann et al. (30) bei einem Patienten mit systemischen Lupus erythematoses (SLE) beschrieben. In einer Familienstudie dieses Falles konnte Rittner et al. (50) zeigen, daß zwischen dem HLA-Komplex und dem C4-Defektgen ($C4^0$) eine enge Kopplung bestand. Neben der homozygot defekten Patientin ($C4^0/C4^0$) existierten drei weitere heterozygot defekte Familienmitglieder ($C4^0/C4$), und in allen Fällen segregierten die $C4^0$ -Gene mit dem Haplotyp HLA-A2,B40,Cw3; BfS, und gleichzeitig mit einem bis dahin noch nicht definierten HLA-D Allel, nämlich RE (28). Die Patientin selbst war homozygot für den gesamten Haplotyp, darüberhinaus auch für PGM3, deren Gene ebenfalls auf dem Chromosom No. 6 in der Nachbarschaft des HLA-Komplexes lokalisiert sind.

Im Jahre 1977 berichtete Ochs et al. (44) von einem zweiten Patienten (SLE) mit C4-Defizienz und Kopplung mit dem HLA-Komplex. In diesem Fall wurden die $C4^0$ -Gene mit dem mütterlichen Haplotyp HLA-A2,B12,Dw2; BfS, und dem väterlichen Haplotyp HLA-A2,B15,Dw8; BfS, verebt. In einer Familienstudie zeigte sich, daß neben dem homozygot defekten Patienten ($C4^0/C4^0$) acht weitere Familienmitglieder von beiden Elternseiten heterozygot defekt waren ($C4^0/C4$).

Auch die Untersuchungen von PGM3 waren informativ für den Erbgang, und dienten als weitere Hinweise für die Lokalisation des $C4^0$ -Gens auf dem Chromosom No. 6 in unmittelbarer Nachbarschaft des HLA-Komplexes.

Ein dritter Patient mit vollständiger C4-Defizienz ($C4^0/C4^0$) und ebenfalls Lupus erythematoses wurde von Ballow et al. (4) im Jahre 1979 beschrieben. Auch hier segregierte das $C4^0$ -Gen in Kopplung mit dem HLA-Komplex, und zwar mit dem Haplotyp HLA-A26,Bw49,DRw2; GLO2, für den der Patient homozygot war. Weitere Familienmitglieder, die nur heterozygote Träger des Haplotyps HLA-A26,Bw49,DRw2; GLO2, waren, zeigten sich mit C4-Serumwerten um 50% der Norm als heterozygot defekt für C4 ($C4^0/C4$).

Neben der Kopplung der Serumkonzentrationen der Komplementkomponenten C2 und C4 mit Genen des HLA-Komplexes wurden ebenso Assoziationen der Strukturpolymorphismen von C2 und C4 zum HLA-Komplex gefunden. Im Jahre 1972 konnte Alper (1b) den Polymorphismus des "glycine-rich β -glycoprotein" (Properdinfaktor B = C3-Proaktivator = Bf) zeigen, und 1974 wurde dessen Kopplung zum HLA-Komplex durch Allen (1a) beschrieben. Im Jahre 1976 wurde ebenfalls durch Alper et al. (2) auch der Polymorphismus von C2 und die enge Assoziation zum Bf-Polymorphismus, und somit auch zum HLA-Komplex, nachgewiesen.

Ein Strukturpolymorphismus des C4 wurde erstmals von Rosenfeld 1969 (51) gefunden, und dann in der Folgezeit von Teisberg et al. (58) weiter untersucht.

Durch die Untersuchungen von O'Neill et al. im Jahre 1978 (45,46) konnte gezeigt werden, daß die beiden seltenen Blutgruppen Chido (Ch) und Rodgers (Rg) Bestandteile der Komplementkomponente C4 sind, und daß sie durch jeweils einen mit dem HLA-Komplex eng gekoppelten distinkten Locus kontrolliert werden. Parallel zu diesen Untersuchungen beim Menschen zeigten sich auch in anderen Spezies überraschende Ähnlichkeiten bei der Kopplung einiger Komplementkomponenten und dem jeweiligen Haupt-Histokompatibilitäts-Komplex (MHC).

Die ersten Hinweise für eine Beziehung zwischen Genen, die das Komplementsystem betreffen, und dem MHC, kamen aus dem Ss-Slp Maussystem. Es konnte nämlich von verschiedenen Arbeitsgruppen gezeigt werden, daß ein Serumprotein, für das in der S-Region des H-2 Komplexes (= MHC der Maus) kodiert wird (Démant et al. 1973, 15), homolog zum menschlichen C4 ist (Meo et al. 1975, 38, Lachmann et al. 1975, 35, Curmann et al. 1975, 11).

Auch die funktionelle C3-Aktivität in der Ontogenese der Maus scheint von Genen kontrolliert zu werden, die eng mit dem H-2 Komplex gekoppelt sind (Ferreira und Nussenzweig 1976, 17).

Auch beim Meerschweinchen konnte in Analogie zum Menschen eine Assoziation des $C4^O$ -Gens zum GLA-Komplex (= MHC des Meerschweinchens) von Shevach et al. 1976 (54) beschrieben werden. Weder Zellen, noch irgendwelche Gewebe dieser $C4^O/C4^O$ defekten Tiere synthetisierten $C4$ unter in vitro Bedingungen, unter denen normale Zellen die Synthese aufrechterhalten.

Eine enge Kopplung des Bf-Locus und dem HLA-Komplex konnte, wie auch oben schon für den Menschen erwähnt, durch Ziegler et al. 1975 (64) nachgewiesen werden. Da C2 und der Faktor B sehr ähnliche Funktionen im klassischen bzw. im Nebenschlußweg (Properdinsystem = "alternative pathway") der Komplementaktivierung haben, und sich außerdem in physiko-chemischen Eigenschaften sehr stark ähneln, kann man annehmen, daß es sich hierbei möglicherweise um eine Genduplikation handelt.

Die enge funktionelle Beziehung zwischen C2 und C4 im klassischen Weg der Komplementaktivierung, sowie die oben erwähnte gametische Assoziation zwischen C2-Defizienz und dem HLA-D Allel Dw2, veranlasste uns, die Serumkonzentrationen von C2 und C4 in unverwandten und gesunden HLA-Dw2 positiven und HLA-Dw2 negativen Blutspendern zu untersuchen.

D Material und Methoden

Serumproben: Die Seren wurden von frischem Vollblut ohne Zusätze durch Zentrifugation (3000 U/min.) gewonnen. Zur Gerinnung war das Blut 30 min. bei Zimmertemperatur und anschließend 60 min. bei 4°C aufbewahrt worden. Die Serumproben wurden in kleinen Volumina (1 ml) eingefroren, und bei - 80°C gelagert.

C2-Bestimmung: Die C2 Aktivität wurde durch Immunhämolyse funktionell bestimmt. Zuerst wurden selbst gewonnene Schaferythrozyten (E) optimal mit Anti-Schaferythrozyten-Antikörpern nach der Methode von Mayer (37) sensibilisiert (EA) EAC₄ und EAC₁₄ Zwischenprodukte wurden nach den Methoden von Borsos und Rapp (7,8) und Ruddy et al. (52) hergestellt. Vor der Inkubation mit EAC₁₄ Zellen wurde das menschliche Serum nach einer modifizierten Methode nach Polley (49) mit einer Iodlösung behandelt, um die hämolytische Aktivität von C2 sowohl zu stabilisieren als auch zu erhöhen. In verschiedenen Vorversuchen wurde sowohl die Konzentration, als auch die Dauer der Serumoxidation durch die Iodlösung, optimal eingestellt. Die EAC₁₄₂ Zellen wurden dann durch Zugabe von selbst gewonnenem Meerschweinchenserum mit 0.04 M EDTA (Natrium-äthylendiamintetraacetat) lysiert. Alle Titrationen wurden in Natriumdiäthylbarbiturat gepufferter physiologischer Kochsalzlösung mit Sucrose (VBS-Sucrose) mit 0.03% Gelatine bei 37°C durchgeführt. Um methodische Schwankungen auszuschließen, wurden alle Titrationen am gleichen Tag, mit denselben Materialien, Zellzwischenprodukten, Puffern und unter den gleichen Inkubationsverhältnissen durchgeführt. Der Grad der Lyse wurde mit Hilfe des im Überstand freigesetzte Hämoglobins spektrophotometrisch bei 412 nm bestimmt. Die Extinktionswerte wurden auf Lochstreifen übertragen. Mit Hilfe eines DIGITAL-Computers und eines Programmes, das an die experimentellen Werte lineare Regressionslinien angeschlossen, wurden die CH₅₀ C2-Werte berechnet.

C4-Bestimmung: Die C4 Serumproteinkonzentrationen wurden proteinchemisch durch Radialimmundiffusion (n. Mancini) auf käuflichen Platten (Behringwerke AG) bestimmt. Die Platten und auch die Standardtestseren entstammten einer Charge.

HLA-Typisierungen: Für die HLA-A und HLA-B Typisierungen wurde ein Set von mehr als 90 hochselektierter Antiseren nach der Methode von Terasaki und McClelland (59) verwendet.

Für die HLA-D Typisierungen wurden auf einem FICOLL-ISOPAQUE-Gradienten (Dichte 1.077) Lymphozyten isoliert und anschließend dreimal mit Kulturmedium (RPMI 1640 + 20mM HEPES-Puffer + Antibiotikazusatz) gewaschen. Die Typisierungen wurden in einem Mikrokultursystem mit 1×10^5 stimulierenden ("stimulating cells") und 1×10^5 reagierenden ("responder cells") durchgeführt. Die stimulierenden Lymphozyten waren für die "One-way" MLC Testung zur Blockierung ihrer DNS-Synthese mit 2500 R bestrahlt worden. Nach Inkubation von 5 Tagen wurde den Kulturen 16 Stunden vor Kulturende 3H-Thymidinlösung zugesetzt. Nach Abzentrifugieren der Kulturplatten, und anschließendem Absaugen des zellfreien Überstandes, der das nicht eingebaute 3H-Thymidin enthält, wurden die radioaktiv markierten Lymphozyten in einem Beta-Szintillationszähler gemessen. Für die Typisierungen wurden homozygote HLA-Typisierungszellen oder "HTC's" (Homozygous Typing Cells) verwendet. Weitere Einzelheiten wurden in früheren Arbeiten von Grosse-Wilde et al. (26,27) publiziert. Die Ergebnisse der MLC Testung wurden in "Counts per minute" (cpm) von jeweils Dreifachwerten erhalten, und mit Hilfe eines Computerprogrammes nach der Methode von Thomsen (57), mit einigen Änderungen von Ruppelt et al. (53) in sogenannte "stabilized relative rrsponses" (SRR) umgerechnet.

Statistische Auswertung: Um die Bimodalität der Verteilungen der experimentell erhaltenen C2 und C4-Werte statistisch zu charakterisieren und zu sichern, wurden mit Hilfe eines FORTRAN-Computerprogrammes logarithmische Gauss'sche Verteilungen an die experimentell erhaltenen Kurven nach einer Methode von Valet et al. (60) angeglichen. In den Abbildungen 1 und 2 sind sowohl die experimentell erhaltenen, als auch die angeglichenen Verteilungen gezeigt.

E Ergebnisse

C2 Bestimmungen: Bei 62 HLA-Dw2 positiven und 64 HLA-Dw2 negativen unverwandten gesunden Personen wurden die C2 Serumspiegel durch Immunhämolysen funktionell bestimmt. Die Verteilungen sowohl der HLA-Dw2 positiven, als auch der HLA-Dw2 negativen Populationen, waren bimodal (Abb.1). Die Mittelwerte und auch die Streubereiche der beiden Gruppen innerhalb der HLA-Dw2 positiven und der HLA-Dw2 negativen Personen waren ähnlich (Tab.1). Darüber hinaus waren auch die Modalwerte in beiden Fällen mit einem Verhältnis von ungefähr 1:2 sehr ähnlich (5×10^3 bzw. 12×10^3 Units C2/ml, s. Abb.1). Obwohl der Kurvenverlauf der HLA-Dw2 positiven mit dem der HLA-Dw2 negativen Population vergleichbar war, so waren doch die Anteile der Gruppen mit niedrigem bzw. hohem C2-Titer statistisch signifikant unterschiedlich ($\chi^2=8.13$, $p=0.004$ für den χ^2 -Test; die Werte für die 2x2 Kontingenztafel wurden aus den theoretischen Verteilungen entnommen). 63% der HLA-Dw2 positiven, aber nur 37% der HLA-Dw2 negativen Population hatten C2-Werte in der niedrigen Gruppe. Dagegen lagen nur 37% der HLA-Dw2 positiven, aber 63% der HLA-Dw2 negativen Population in der Gruppe mit hohen C2-Werten. Eine zweite Blutprobe wurde von einigen der Personen sechs Monate später entnommen, um zu sehen, ob die Ergebnisse der ersten Blutung sich auch als stabil erweisen würden. Die C2-Werte von fünf HLA-Dw2 positiven und fünf HLA-Dw2 negativen Probanden waren fast identisch (Abb.3). Dies macht es sehr unwahrscheinlich, daß die bimodalen Verteilungen nur das Ergebnis vorübergehender funktioneller Schwankungen gewesen waren ($r=0.995$, $p < 0.001$).

C4 Bestimmungen: Bei 64 HLA-Dw2 positiven und 72 HLA-Dw2 negativen unverwandten gesunden Personen wurde C4 proteinchemisch durch Immundiffusion bestimmt. In beiden Populationen zeigte sich eine bimodale Verteilung der C4-Werte, die allerdings bei der HLA-Dw2 negativen

Population nicht so ausgeprägt war wie bei der HLA-Dw2 positiven (Abb.2). 39% der HLA-Dw2 positiven, aber nur 15% der HLA-Dw2 negativen Population hatten niedrige C4-Werte. Dagegen lagen nur 61% der HLA-Dw2 positiven, aber 85% der HLA-Dw2 negativen Population in der Gruppe mit hohen C4-Werten. Die Mittelwerte und Streubereiche der C4-Werte der jeweiligen hohen bzw. niedrigen Gruppe waren in der HLA-Dw2 positiven und der HLA-Dw2 negativen Population sehr ähnlich (Tab.1). Die Modalwerte lagen ungefähr bei 28 mg/100 ml bzw. 42 mg/100 ml, dies entspricht einem Verhältnis von 1:1.5. Legt man dieselben Kriterien wie bei der Untersuchung der C2-Werte zugrunde, so waren auch die Anteile der C4-Werte in den niedrigen bzw. hohen Gruppen signifikant unterschiedlich ($\chi^2=9.84$, $p=0.0017$). Die Ergebnisse einer zweiten Blutentnahme sind in Abb.3 gezeigt. Wie auch bei C2, so waren auch die C4 Proteinwerte bei sechs HLA-Dw2 positiven und sechs HLA-Dw2 negativen Personen stabil, und korrelierten mit der ersten Bestimmung ($r=0.996$, $p<0.001$). Eine Analyse der Beziehung zwischen C2- und C4-Werten in der HLA-Dw2 positiven Population (Abb.4) zeigte eine deutliche positive Korrelation ($r=0.338$, $p<0.01$).

HLA-A und HLA-B Analyse: Sämtliche Frequenzen der HLA-A und HLA-B Allele wurden sowohl in der HLA-Dw2 positiven als auch der HLA-Dw2 negativen Population berechnet (siehe Tabellen 2-5, Spalte 2). Von den erwarteten Genfrequenzen des Joint Report (Tabelle 2-5, Spalte 1) wurden keine stärkeren Abweichungen festgestellt. Auch die verschiedenen Kopplungsungleichgewichte (z.B. HLA-A3,B7 oder HLA-A10,B18 mit dem HLA-Dw2 Allel) konnten wie erwartet beobachtet werden. Besonders für die Allele HLA-A3, A10(A25) und HLA-B7, B18 ergaben sich bei den HLA-Dw2 positiven Personen deutlich erhöhte Frequenzen in der Gruppe mit niedrigen C2-Werten. Diese Ergebnisse korrelieren sehr gut mit denen früherer Untersuchungen (12,13,14,20,21,22,62).

Bei der Verteilung der niedrigen C4-Werte ergaben sich Häufungen bei den Allelen HLA-A3 und A25 in der HLA-Dw2 positiven Population, sowie bei den Allelen HLA-B12 und B4o in der HLA-Dw2 negativen Population. Hier ist anzumerken, daß in den bisher untersuchten Familien mit C4-Defizienz das C4-Defektgen ($C4^O$) einmal zusammen mit dem Allel B12 (44) und einmal zusammen mit dem Allel B4o (50) segregierte.

Eine vollständige Zusammenstellung der HLA-A und HLA-B Genfrequenzen, sowie der Genfrequenzen der Subpopulationen mit niedrigen C2 bzw. C4 Serumkonzentrationen, ist in den Tabellen 2 - 5 gezeigt.

Abbildung 1

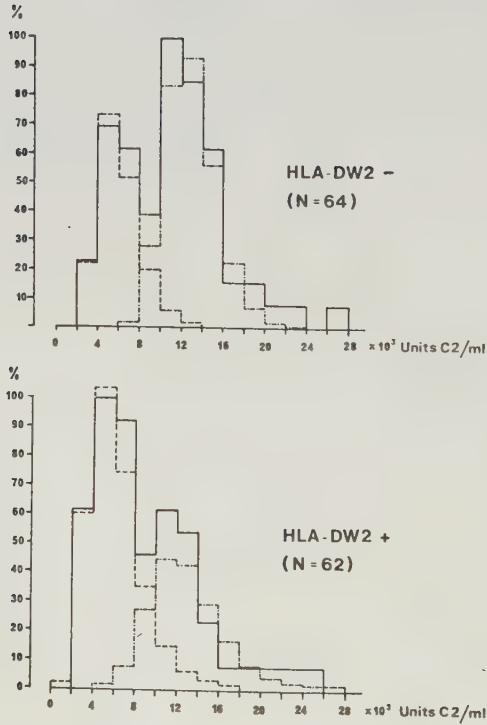


Abb. 1. Verteilung der C2 Serumspiegel von HLA-DW2 positiven und negativen gesunden Personen.

- Experimentelle Kurven
 - - - Theoretische Verteilung der niedrigen C2 Spiegel
 ····· Theoretische Verteilung der hohen C2 Spiegel

Abbildung 2

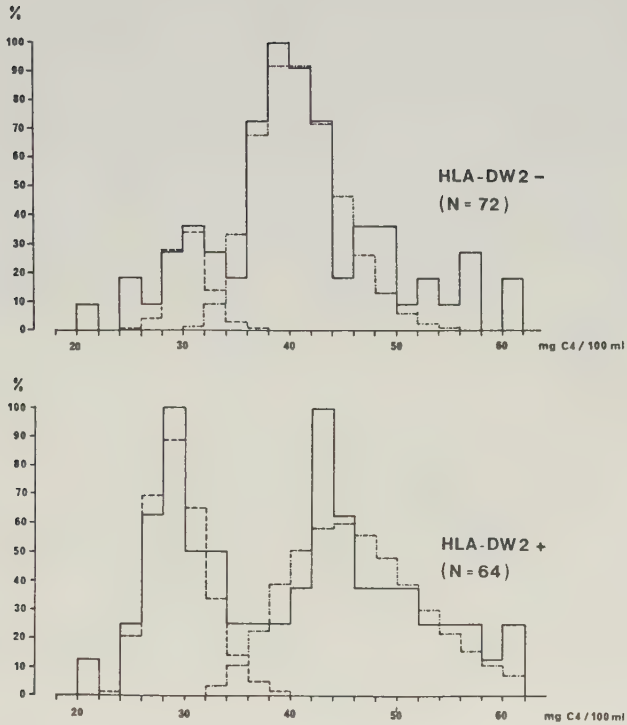


Abb. 2. Verteilung der C4 Serumspegel von HLA-DW2 positiven und negativen gesunden Personen.

— Experimentelle Kurven

- - - Theoretische Verteilung der niedrigen C4 Spiegel

- · - · - Theoretische Verteilung der hohen C4 Spiegel

Abbildung 3

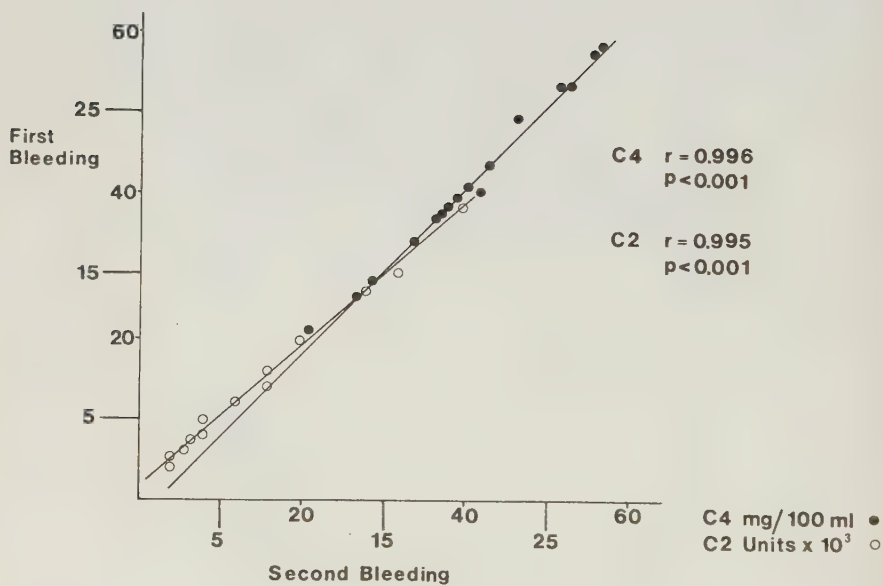


Abb. 4. Vergleich der C2 und C4 Serumspiegel der ersten und der zweiten Blutung nach sechs Monaten.

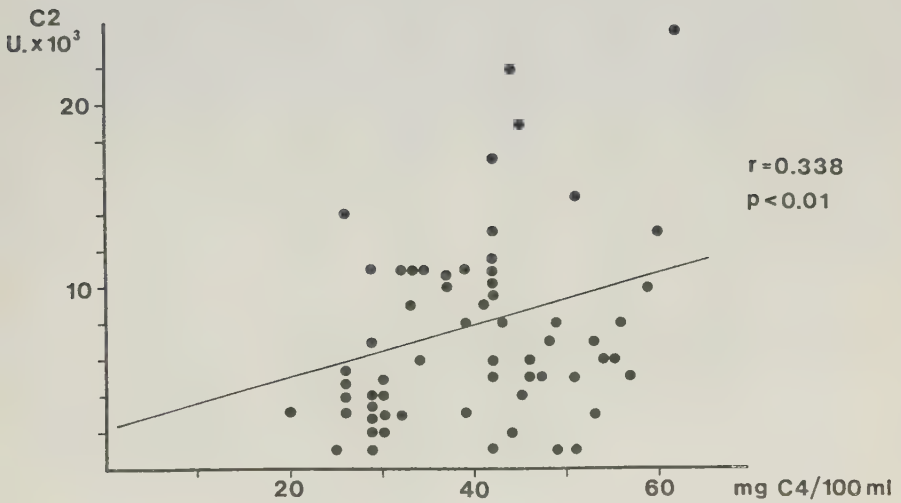
Abbildung 4

Tabelle 1

Ergebnisse der C2-Bestimmung

	<u>HLA-Dw2 positive</u>			<u>HLA-Dw2 negative</u>		
	<u>N</u>	<u>C2 Units/ml</u>	<u>%</u>	<u>N</u>	<u>C2 Units/ml</u>	<u>%</u>
Gesamt	62	7.280 $\pm$ 5.138	100	64	9.340 $\pm$ 4.772	100
Personen mit niedrigem C2	39	3.530 $\pm$ 1.801	63	24	4.130 $\pm$ 1.620	37
Personen mit hohem C2	23	11.530 $\pm$ 4.277	37	40	11.700 $\pm$ 3.747	63

Ergebnisse der C4-Bestimmung

	<u>HLA-Dw2 positive</u>			<u>HLA-Dw2 negative</u>		
	<u>N</u>	<u>C4 mg/100 ml</u>	<u>%</u>	<u>N</u>	<u>C4 mg/100 ml</u>	<u>%</u>
Gesamt	64	39,5 $\pm$ 10,2	100	72	40,4 $\pm$ 8,3	100
Personen mit niedrigem C4	25	28,6 $\pm$ 2,9	39	11	28,8 $\pm$ 3,3	15
Personen mit hohem C4	39	46,1 $\pm$ 6,7	61	61	43,3 $\pm$ 6,5	85

Verteilung der HLA-A Genfrequenzen zweier Populationen:

- a) Dw2+ n=62 =100%; nach C2-Bestimmung bimodale Verteilung
 normal : n=29 =47%
 niedrig: n=33 =53%
- b) Dw2- n=64 =100%; nach C2-Bestimmung bimodale Verteilung
 normal : n=44 =69%
 niedrig: n=20 =31%

(Dw2)	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
A1 (+)	0.140	0.129	0.074	0.068	0.065
A1 (-)	0.140	0.102	0.043	0.031	0.023
A2 (+)	0.252	0.242	0.134	0.128	0.129
A2 (-)	0.252	0.359	0.078	0.111	0.102
A3 (+)	0.140	0.234	0.074	0.124	0.153
A3 (-)	0.140	0.141	0.043	0.043	0.039
A9 (+)	0.123	0.097	0.065	0.051	0.024
A9 (-)	0.123	0.063	0.038	0.019	0.023
A10 (+)	0.078	0.137	0.041	0.073	0.073
A10 (-)	0.078	0.047	0.024	0.014	0
A11 (+)	0.051	0.040	0.027	0.021	0.008
A11 (-)	0.051	0.039	0.016	0.012	0.016
A25 (+)	0.020	0.024	0.011	0.013	0.024
A25 (-)	0.020	0.039	0.006	0.012	0.016
A26 (+)	0.051	0	0.027	0	0
A26 (-)	0.051	0.023	0.016	0.007	0.008
A28 (+)	0.036	0.024	0.019	0.013	0.008
A28 (-)	0.036	0.047	0.011	0.015	0.023
A29 (+)	0.025	0.024	0.013	0.013	0.024
A29 (-)	0.025	0.008	0.008	0.002	0
Aw19 (+)	n.list.	0.024	n.list.	0.013	0.016
Aw19 (-)	n.list.	0.047	n.list.	0.015	0.023
Aw23 (+)	0.036	0	0.019	0	0
Aw23 (-)	0.036	0.008	0.011	0.002	0
Aw31 (+)	0.036	0	0.019	0	0
Aw31 (-)	0.036	0.008	0.011	0.002	0.003
Aw32 (+)	0.036	0	0.019	0	0
Aw32 (-)	0.036	0.047	0.011	0.016	0.023
Aw33 (+)	0.010	0	0.005	0	0
Aw33 (-)	0.010	0.008	0.003	0.002	0.003
A-B1.(+)	0.053	0.024	0.023	0.013	0.003
A-B1.(-)	0.053	0.016	0.016	0.005	0

- (1) Genfrequenzen nach Joint Report 76'
 (2) Tatsächliche Genfrequenzen in den untersuchten Populationen
 (3) Erwartete Genfrequenzen für die Subpopulationen mit niedrigen C2-Spiegeln berechnet nach den Joint Report Genfrequenzen
 (4) Erwartete Genfrequenzen für die Subpopulationen mit niedrigen C2-Spiegeln, berechnet nach den tatsächlichen Genfrequenzen
 (5) In der Untersuchung beobachtete Genfrequenzen für die Subpopulationen mit niedrigen C2-Spiegeln

Verteilung der HLA-B Genfrequenzen zweier Populationen:

- a) Dw2+ n=52 =100%; nach C2-Bestimmung bimodale Verteilung
 normal : n=29 =47%
 niedrig: n=33 =53%
- b) Dw2- n=64 =100%; nach C2-Bestimmung bimodale Verteilung
 normal : n=44 =69%
 niedrig: n=20 =31%

(Dw2)	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
B5 (+)	0.057	0.016	0.030	0.008	0.003
B5 (-)	0.057	0.078	0.018	0.024	0.023
B7 (+)	0.100	0.395	0.053	0.210	0.218
B7 (-)	0.100	0.117	0.031	0.036	0.023
B8 (+)	0.089	0.073	0.047	0.039	0.043
B8 (-)	0.089	0.039	0.028	0.012	0.016
B12 (+)	0.117	0.065	0.062	0.034	0.048
B12 (-)	0.117	0.180	0.036	0.056	0.039
B13 (+)	0.036	0.016	0.019	0.008	0
B13 (-)	0.036	0.047	0.011	0.015	0.016
B14 (+)	0.036	0.008	0.019	0.004	0
B14 (-)	0.036	0.023	0.011	0.007	0.016
B15 (+)	0.067	0.073	0.036	0.039	0.024
B15 (-)	0.067	0.070	0.020	0.022	0.039
B17 (+)	0.041	0.032	0.022	0.017	0.032
B17 (-)	0.041	0.039	0.013	0.012	0
B18 (+)	0.062	0.145	0.033	0.077	0.081
B18 (-)	0.062	0.016	0.019	0.005	0.008
B27 (+)	0.051	0.024	0.027	0.013	0.003
B27 (-)	0.051	0.047	0.016	0.015	0.016
B37 (+)	0.025	0	0.013	0	0
B37 (-)	0.025	0.008	0.003	0.002	0
B40 (+)	0.051	0.023	0.027	0.012	0.015
B40 (-)	0.051	0.094	0.016	0.029	0.023
Bw16 (+)	0.050	0.040	0.027	0.021	0.016
Bw16 (-)	0.050	0.047	0.016	0.015	0.023
Bw21 (+)	0.030	0.016	0.016	0.003	0.003
Bw21 (-)	0.030	0.047	0.009	0.015	0.003
Bw22 (+)	0.020	0.016	0.011	0.003	0
Bw22 (-)	0.020	0.023	0.006	0.007	0
Bw35 (+)	0.100	0.040	0.053	0.021	0.016
Bw35 (-)	0.100	0.102	0.031	0.032	0.047
Bw50 (+)	n.list.	0	n.list.	0	0
Bw50 (-)	n.list.	0.003	n.list.	0.002	0
B-B1.(+)	0.018	0.016	0.010	0.003	0.003
B-B1.(-)	0.018	0.003	0.006	0.002	0

(1) Genfrequenzen nach Joint Report 76'

(2) Tatsächliche Genfrequenzen in den untersuchten Populationen

(3) Erwartete Genfrequenzen für die Subpopulationen mit niedrigen C2-Spiegeln berechnet nach den Joint Report Genfrequenzen

(4) Erwartete Genfrequenzen für die Subpopulationen mit niedrigen C2-Spiegeln, berechnet nach den tatsächlichen Genfrequenzen

(5) In der Untersuchung beobachtete Genfrequenzen für die

Verteilung der HLA-A Genfrequenzen zweier Populationen:

- a) Dw2+ n=64 =100%; nach C4-Bestimmung bimodale Verteilung
 normal : n=40 =62%
 niedrig: n=24 =38%
- b) Dw2- n=72 =100%; nach C4-Bestimmung bimodale Verteilung
 normal : n=58 =81%
 niedrig: n=14 =19%

(Dw2)	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
A1 (+)	0.140	0.133	0.053	0.051	0.055
A1 (-)	0.140	0.099	0.027	0.019	0.035
A2 (+)	0.252	0.242	0.096	0.092	0.102
A2 (-)	0.252	0.368	0.048	0.070	0.097
A3 (+)	0.140	0.227	0.053	0.086	0.117
A3 (-)	0.140	0.145	0.027	0.028	0.021
A9 (+)	0.123	0.094	0.047	0.036	0.003
A9 (-)	0.123	0.069	0.023	0.013	0.014
A10 (+)	0.078	0.125	0.030	0.043	0.031
A10 (-)	0.078	0.042	0.015	0.008	0.014
A11 (+)	0.051	0.047	0.019	0.018	0.023
A11 (-)	0.051	0.035	0.010	0.007	0
A25 (+)	0.020	0.023	0.008	0.009	0.016
A25 (-)	0.020	0.042	0.004	0.008	0.007
A26 (+)	0.051	0	0.019	0	0
A26 (-)	0.051	0.028	0.010	0.005	0.007
A28 (+)	0.036	0.023	0.014	0.009	0
A28 (-)	0.036	0.042	0.007	0.003	0.021
A29 (+)	0.025	0.023	0.009	0.009	0
A29 (-)	0.025	0.014	0.005	0.003	0
Aw19 (+)	n.list.	0.023	n.list.	0.009	0.008
Aw19 (-)	n.list.	0.042	n.list.	0.003	0.021
Aw23 (+)	0.036	0	0.014	0	0
Aw23 (-)	0.036	0.007	0.007	0.001	0
Aw31 (+)	0.036	0	0.014	0	0
Aw31 (-)	0.036	0.007	0.007	0.001	0
Aw32 (+)	0.036	0	0.014	0	0
Aw32 (-)	0.036	0.042	0.007	0.003	0.021
Aw33 (+)	0.010	0	0.004	0	0
Aw33 (-)	0.010	0.007	0.002	0.001	0
A-B1. (+)	0.053	0.031	0.020	0.012	0.031
A-B1. (-)	0.053	0.014	0.010	0.003	0

- (1) Genfrequenzen nach Joint Report 76'
 (2) Tatsächliche Genfrequenzen in den untersuchten Populationen
 (3) Erwartete Genfrequenzen für die Subpopulationen mit niedrigen C4-Spiegeln, berechnet nach Joint Report Genfrequenzen
 (4) Erwartete Genfrequenzen für die Subpopulationen mit niedrigen C4-Spiegeln, berechnet nach den tatsächlichen Genfrequenzen
 (5) In der Untersuchung beobachtete Genfrequenzen für die Subpopulationen mit niedrigen C4-Spiegeln

Verteilung der HLA-B Genfrequenzen zweier Populationen:

- a) Dw2+ n=64 =100%; nach C4-Bestimmung bimodale Verteilung
 normal : n=40 =62%
 niedrig: n=24 =38%
- b) Dw2- n=72 =100%; nach C4-Bestimmung bimodale Verteilung
 normal : n=58 =81%
 niedrig: n=14 =19%

(Dw2)	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
B5 (+)	0.057	0.016	0.022	0.006	0.008
B5 (-)	0.057	0.083	0.011	0.016	0.028
B7 (+)	0.100	0.398	0.038	0.151	0.141
B7 (-)	0.100	0.111	0.019	0.021	0.021
B8 (+)	0.039	0.078	0.034	0.030	0.039
B8 (-)	0.039	0.049	0.017	0.009	0.028
B12 (+)	0.117	0.063	0.044	0.024	0.023
B12 (-)	0.117	0.174	0.022	0.033	0.056
B13 (+)	0.036	0.016	0.014	0.006	0.016
B13 (-)	0.036	0.049	0.007	0.009	0.014
B14 (+)	0.036	0.008	0.014	0.003	0
B14 (-)	0.036	0.021	0.007	0.004	0
B15 (+)	0.067	0.078	0.025	0.030	0.031
B15 (-)	0.067	0.083	0.013	0.016	0.007
B17 (+)	0.041	0.023	0.016	0.009	0.008
B17 (-)	0.041	0.035	0.008	0.007	0.007
B18 (+)	0.062	0.148	0.024	0.056	0.031
B18 (-)	0.062	0.014	0.012	0.003	0.007
B27 (+)	0.051	0.023	0.019	0.009	0.003
B27 (-)	0.051	0.056	0.010	0.010	0.014
B37 (+)	0.025	0	0.010	0	0
B37 (-)	0.025	0.007	0.005	0.001	0
B40 (+)	0.051	0.023	0.019	0.009	0.016
B40 (-)	0.051	0.097	0.010	0.018	0.028
Bw16 (+)	0.050	0.031	0.019	0.012	0.016
Bw16 (-)	0.050	0.049	0.010	0.009	0.021
Bw21 (+)	0.030	0.016	0.011	0.007	0.008
Bw21 (-)	0.030	0.049	0.006	0.009	0.007
Bw22 (+)	0.020	0.016	0.008	0.006	0
Bw22 (-)	0.020	0.021	0.004	0.004	0.007
Bw35 (+)	0.100	0.047	0.033	0.013	0.039
Bw35 (-)	0.100	0.104	0.019	0.020	0.023
Bw50 (+)	n.list.	0	n.list.	0	0
Bw50 (-)	n.list.	0.007	n.list.	0.001	0
B-B1.(+)	0.013	0.016	0.007	0.006	0.003
B-B1.(-)	0.013	0.007	0.003	0.001	0

(1) Genfrequenzen nach Joint Report 76'

(2) Tatsächliche Genfrequenzen in den untersuchten Populationen

(3) Erwartete Genfrequenzen für die Subpopulationen mit niedrigen C4-Spiegeln, berechnet nach Joint Report Genfrequenzen

(4) Erwartete Genfrequenzen für die Subpopulationen mit niedrigen C4-Spiegeln, berechnet nach den tatsächlichen Genfrequenzen

(5) In der Untersuchung beobachtete Genfrequenzen für die

Subpopulationen mit niedrigen C4-Spiegeln

F Diskussion

Diese Studie ist unseres Wissens die erste, die über die genetische Kopplung von C2 und C4 Serumkonzentrationen mit dem HLA-System bei gesunden unverwandten Personen Aufschluß gibt. Frühere Untersuchungen auf diesem Gebiet beschäftigten sich fast ausschließlich mit Familien, in denen ein oder mehrere Mitglieder an einem Defekt der Komplementkomponente C2 bzw. C4 litten, und gleichzeitig von einer Autoimmun- bzw. einer Erkrankung des rheumatischen Formenkreises befallen waren (33,34,10,3, 12,56,61,48,36,23,18,20,25,16,47).

Diese Studien konnten sehr deutlich zeigen, daß das C2-Defektgen ($C2^0$) in diesen Familien zusammen mit HLA-Haplotypen segregierte, und daß sich dieses Defektgen in Kopplungsungleichgewicht mit dem HLA-Dw2 Allel, möglicherweise mit dem gesamten Haplotyp HLA-A10(A25),B18,Dw2, befand.

Die genetische Kopplung zwischen einem C4-Defektgen ($C4^0$) und dem HLA-Komplex konnte bisher in drei Familien eindeutig bewiesen werden (50,44,4). Auf Grund der Angaben in der Literatur kann man sicher sagen, daß die C4-Defizienz weit weniger häufig auftritt als der Defekt von C2.

Für uns gab es drei Gründe sowohl C2 als auch C4 Serumkonzentrationen bei gesunden HLA-Dw2 positiven und HLA-Dw2 negativen Personen zu untersuchen. Erstens, die gametische Assoziation zwischen $C2^0$ und HLA-Dw2, zweitens, die schon bekannte Kopplung zwischen $C4^0$ und dem HLA-Komplex, und drittens, die enge funktionelle Beziehung zwischen C2 und C4 in der Aktivierung der Komplementkaskade.

Die Ergebnisse der C2-Bestimmung bei 62 HLA-Dw2 positiven unverwandten gesunden Blutspendern zeigen eine stabile und deutlich bimodale Verteilung, wobei ca. 2/3 der untersuchten Probanden in der niedrigen Gruppe liegen.

Unerwartet war das Ergebnis bei der HLA-Dw2 negativen Population (N=64); wir fanden hier ebenfalls eine bimodale Verteilung und ca. 1/3 der untersuchten Blutspender in der niedrigen Gruppe.

Vergleicht man jedoch die Größe der Gruppen mit niedrigen bzw. hohen C2-Werten in der HLA-Dw2 positiven Population mit der Größe der Gruppen in der HLA-Dw2 negativen Population, so weist der statistisch deutlich signifikante Unterschied in der Verteilung daraufhin, daß eine Vorauswahl für den genetischen Marker HLA-Dw2 eine erhöhte Anzahl von Personen mit niedrigen C2 Serumkonzentrationen zur Folge hat.

In den Familien mit homozygot defekten Familienmitgliedern wurden drei verschiedene Klassen von C2-Serumspiegeln beobachtet: Null ($C2^0/C2^0$), niedrig ($C2^0/C2$), und hoch=normal ($C2/C2$); dies deutet auf einen kodominanten Erbgang hin. Die niedrigen C2-Werte wurden bei Familienmitgliedern gefunden, die ein normales und ein defektes C2-Gen besitzen, d.h. sie sind heterozygot defekt, während die hohen=normalen C2-Werte denjenigen Personen entsprechen, die ein normales C2-Gen in doppelter Dosis erhalten haben. Auf Grund dieser Familienuntersuchungen ziehen wir die Schlußfolgerung, daß die scharf abgrenzbare Gruppe mit niedrigen C2 Serumkonzentrationen in unserer Studie aus heterozygot defekten Personen ($C2^0/C2$) besteht. Ein weiterer Hinweis dafür ist die Tatsache, daß eine Vorauswahl für das HLA-Dw2 Allel einen Anstieg der Anzahl von Personen mit niedrigen C2-Werten zur Folge hat. Ein eindeutiger Beweis für diese Annahme kann nur durch weitere Familienuntersuchungen unter Einbeziehung des schon bekannten C2-Polymorphismus (1b,31,39) erbracht werden. Falls das C2-Defektgen ein Allel der Allotypen von C2 wäre, dann würden $C2^0/C2$ Personen, die also nur ein C2 Allel exprimieren, das Erscheinungsbild von "Hämizygoten" bieten.

Eine mögliche Erklärung für die Assoziation des C2-Defektgens mit dem HLA-Komplex könnte die Mutation von einem oder mehreren Genen sein, die die Synthese von C2 kontrollieren ($C2 \rightarrow C2^0$), und zwar könnte diese Mutation z.B. in einer Person erfolgt sein, die Träger des Haplotyps HLA-A10(A25),B18,Dw2; BfS war.

In Studien von Bertrams et al. (5,6) konnte gezeigt werden, daß dieser o.a. Haplotyp in einer Gruppe von Patienten mit Multipler Sklerose (MS) stark mit dem C2-Defektgen ($C2^0$) assoziiert war. Allerdings besteht weder für HLA-B18, noch für den Haplotyp HLA-A10(A25),B18 allein, eine Assoziation mit der MS. Dagegen tritt das Allel HLA-Dw2 stark gehäuft bei MS-Patienten auf (6). Daraus kann man folgern, daß eine enge Assoziation von HLA-Dw2 und der MS einerseits, und HLA-Dw2 und einem C2-Defektgen ($C2^0$) andererseits (wie auch in unserer Studie gezeigt wurde) besteht. Auch der von Bertrams postulierte MS-Empfänglichkeits-Locus ("MS-susceptibility-locus") könnte in Nachbarschaft zu dieser Gruppe von Genen liegen (s.a. Abb. des Chromosoms No.6).

Ein überraschendes Ergebnis war die Tatsache, daß eine Vorauswahl für HLA-Dw2 auch eine Zunahme der Zahl von Personen mit niedrigen C4 Serumproteinkonzentrationen zur Folge hat. Legt man dieselben Bedingungen wie bei den Untersuchungen von C2 zugrunde, so kann man annehmen, daß die niedrige C4 Gruppe aus heterozygot defekten Personen besteht. Obwohl es starke Hinweise für eine Kopplung von C4 Serumkonzentrationen und dem HLA-D System gibt (50,44,4), so kann doch ein endgültiger Beweis für das heterozygote Auftreten von C4-Defekten von den obigen Daten allein nicht gegeben werden.

Wie schon bei der Diskussion der Ergebnisse der C2 Bestimmung erwähnt, würden hier Untersuchungen des C4-Polymorphismus (51,58,45,46) weitere Aufklärung bringen. Die Untersuchungen von O'Neill et al. über den Zusammenhang der Blutgruppen Chido und Rodgers

mit der Komplementkomponente C4 brachten hier neue Aufschlüsse (45,46). Allerdings scheint die genetische Kontrolle von C4 komplizierter, als früher angenommen, zu sein. Offenbar existieren neben zwei Strukturgenen für C4 auch ein oder mehrere C4-Defektgene ($C4^O$), die alle mit dem HLA-Komplex gekoppelt sind.

Als weiterer Hinweis für die positive Assoziation von niedrigen C2 und C4 Serumkonzentrationen mit dem HLA-Dw2 Allel kann auch der statistisch signifikante Korrelationskoeffizient gewertet werden (Abb. 4).

Geht man davon aus, daß die niedrigen Serumspiegel von C2 und C4 heterozygot defekten Individuen entsprechen, so kann man die Frequenzen von $C2^O/C2^O$ und $C4^O/C4^O$ berechnen. Auf Grund unserer Daten wären die Frequenzen für $C2^O/C2^O$ 14.5% und für $C4^O/C4^O$ 1.0%. Obwohl der homozygote C2-Defekt ($C2^O/C2^O$) auch bei gesunden Individuen gefunden wurde, so erscheinen uns doch beide Werte als relativ zu hoch, wenn man die bisher beobachteten Fälle von Defizienzen in Betracht zieht.

Da unsere Untersuchungen über die Assoziation zwischen dem HLA-Dw2 Allel und C2 bzw. C4 nur phänotypischer Art waren, sind die berechneten $C2^O/C2^O$ und $C4^O/C4^O$ Frequenzen mit Vorsicht zu beurteilen. Neben den C2- und C4-Defektgenen, die mit dem HLA-Dw2 Allel assoziiert sind, existieren möglicherweise noch andere Faktoren, die bei der Regulation der C2 und C4 Serumkonzentrationen eine Rolle spielen.

Auch ist bisher nicht bekannt, ob es sich bei den C2- bzw. C4-Defekten um Defekte der Struktur- oder der Regulationsgene handelt. Auch ein Defekt auf der Ebene der "Messenger"-RNS (mRNA) für C2 bzw. C4 muß hierbei in Betracht gezogen werden.

G Zusammenfassung

Unsere Untersuchungen bei gesunden unverwandten Personen konnten die Assoziation des HLA-Dw2 Allels mit einem C2-Defektgen ($C2^O$), die schon in früheren Familienstudien mit Autoimmunerkrankungen und Krankheiten des rheumatischen Formenkreises dargestellt wurde, weiter erhärten.

Darüberhinaus konnte gezeigt werden, daß auch der C4 Serumspegel von Genen reguliert wird, die offenbar in enger Beziehung zum HLA-Dw2 Allel stehen.

Diese Gene sind möglicherweise identisch mit C2- und C4- Defektgenen, von denen bekannt ist, daß sie auf dem Chromosom No.6 liegen, und eng mit dem HLA-Komplex assoziiert sind. Daneben scheinen auch der C2- und C4-Polymorphismus, sowie der Bf-Polymorphismus (Properdin-faktor B) von Genen kontrolliert zu werden, die eng mit dem HLA-Komplex gekoppelt sind.

Als praktische Auswirkung dieser Studie scheint es wichtig zu betonen, daß bei der klinischen Interpretation von Komplementtitrationsdaten in der Zukunft zu bedenken ist, daß die Serumkonzentrationen von C2 und C4 offenbar nicht nur durch Produktion und Verbrauch, sondern auch durch genetische Faktoren bestimmt sind.

H Literatur

- 1a. Allen, F.H. 1974. Linkage of HL-A and GBG. *Vox.Sang.* 27:382.
- 1b. Alper, C.A., T. Boenisch, and L. Watson. 1972. Genetic polymorphism in human glycine-rich beta-glycoprotein. *J.Exp.Med.* 135:68.
2. Alper, C.A. 1976. Inherited structural polymorphism in human C2: Evidence for genetic linkage between C2 and Bf. *J. Exp. Med.* 144:1111.
3. Agnello, V., M.M.E. de Bracco, and H.G. Kunkel. 1972. Hereditary C2 deficiency with some manifestations of systemic lupus erythematosus. *J. Immunol.* 108:837.
4. Ballow, M., R.H. McLean, M. Einarson, S. Martin, E.J. Yunis, B. Dupont, and G.J. O'Neill. 1979. Hereditary C4 deficiency - genetic studies and linkage in HLA. *Transplant. Proc.* IX, 4:1710.
5. Bertrams, J., H. Grosse-Wilde, Ch. Nerl, W. Opferkuch, W. Luboldt, H. Schuppien, and E. Kuwert. 1977. C2 Hypokomplementämie bei Multipler Sklerose: Ein HLA gekoppelter genetischer Defekt? IX. Tagung der Gesellschaft für Immunologie Heidelberg, 2.-5.10.1977.
6. Bertrams, J., W. Opferkuch, H. Grosse-Wilde, H. Schuppien, W. Luboldt, and E. Kuwert. 1978. HLA-Dw2 associated C2-hypocomplementaemia in multiple sclerosis. In: Rother, K., Opferkuch, W., and R. Schultz (eds.), *Clinical Aspects of the Complement System*. Thieme, Stuttgart, p.21
7. Borsos, T., and H.J. Rapp. 1967. Immune hemolysis: A simplified method for the preparation of EAC4 with guinea pig or human complement. *J. Immunol.* 99:263.
8. Borsos, T., H.J. Rapp, and H.R. Colten. 1970. Immune hemolysis and the functional properties of the second (C2) and fourth (C4) components of complement. *J. Immunol.* 105:1439.
9. Coca, A.F. 1920. A study of the serum of complement-deficient guinea-pigs. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 18:71.
10. Cooper, N.R., R. Ten Bonsel, and P.F. Kohler. 1968. Studies of an additional kindred with hereditary deficiency of the second component of human complement (C2) and description of a new method for the quantitation of C2. *J. Immunol.* 101:1176.
11. Curmann B., L. Ostberg, L. Sandberg, I. Malmheden-Eriksson, G. Stalenheim, L. Rask, and P.A. Peterson. 1975. H-2 linked Ss protein is C4 component of complement. *Nature (Lond.)* 258:243.

12. Day, N.K., H. Geiger, R. McLean, A. Michael, and R.A. Good. 1973. C2 deficiency. Development of lupus erythematosus. *J. Clin. Invest.* 52:1601.
13. Day, N.K., P. L'Esperance, R.A. Good, A.F. Michael, J.A. Hansen, B. Dupont, and C. Jersild. 1975. Hereditary C2 deficiency: Genetic studies and associations with the HL-A system. *J. Exp. Med.* 141:1464.
14. Day, N.K., P. Rubinstein, D. Case, J.A. Hansen, R.A. Good, M.E. Walker, N. Tulchin, B. Dupont, and C. Jersild. 1976. Linkage of gene for C2 deficiency and the Major Histocompatibility Complex MHC in man. Family study of a further case. *Vox. Sang.* 31:96.
15. Démant, P., J. Capková, E. Hinzová, and B. Voráčová. 1973. The role of the histocompatibility-2-linked Ss-Slp region in the control of mouse complement. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 70:863.
16. Douglass, M.C., S.I. Lamberg, A.L. Lorincz, R.A. Good, and N.K. Day. 1976. Lupus erythematosus-like syndrome with a familial deficiency of C2. *Arch. Dermatol.* 112:671.
17. Ferreira, A., and V. Kussenzweig. 1976. Control of C3 levels in mice during ontogeny by a gene in the central region of the H-2 complex. *Nature (Lond.)* 260:613.
18. Friend, P., J.E. Repine, Y. Kim, C.C. Clawson, and A.F. Michael. 1975. Deficiency of the second component of complement (C2) with chronic vasculitis. *Ann. Int. Med.* 83:813.
19. Friend, P.S., B.S. Handwerger, Y. Kim, A.F. Michael, and E.J. Yunis. 1975. C2 deficiency in man. Genetic relationship to a mixed lymphocyte reaction determinant (7a⁺). *Immunogenetics* 2:569.
20. Fu, S.M., H.G. Kunkel, H.P. Brusman, F.H. Allen, and M. Fotino. 1974. Evidence for linkage between HL-A histocompatibility genes and those involved in the synthesis of the second component of complement. *J. Exp. Med.* 140:1108.
21. Fu, S.M., R. Stern, H.G. Kunkel, B. Dupont, J.A. Hanseñ, N.K. Day, R.A. Good, C. Jersild, and M. Fotino. 1975. LD-7a association with C2 deficiency in five of six families. In F. Kissmeyer-Nielsen (ed.): *Histocompatibility Testing 1975*, Munksgard, Copenhagen, p. 933.
22. Fu, S.M., R. Stern, H.G. Kunkel, B. Dupont, J.A. Hansen, N.K. Day, R.A. Good, C. Jersild, and M. Fotino. 1975. Mixed lymphocyte culture determinants and C2 deficiency: LD-7a associated with C2 deficiency in four families. *J. Exp. Med.* 142:495.

23. Gelfand, E.W., J.E. Clarkson, and J.O. Minta. 1975. Selective deficiency of the second component of complement in a patient with anaphylactoid purpura. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 4:269.
24. Gibson, D.J., D. Glass, C.B. Carpenter, and P.H. Schur. 1976. Hereditary C2 deficiency: Diagnosis and HLA gene complex associations. *J. Immunol.* 116:1065.
25. Glass, D., D. Raum, D. Gibson, J.S. Stillmann, and P.H. Schur. 1976. Inherited deficiency of the second component of complement. Rheumatic disease associations. *J. Clin. Invest.* 58:853.
26. Grosse-Wilde, H., P. Baumann, B. Netzel, H.-J. Kolb, W. Mempel, R. Wank, and E.D. Albert. 1973. One-way nonstimulation in MLC related to DL-A homozygosity. *Transplant. Proc.* 4:1567.
27. Grosse-Wilde, H., B. Netzel, W. Mempel, W. Ruppelt, G. Brehm, J. Bertrams, R. Ewald, V. Lenhard, C. Rittner, S. Scholz, and E.D. Albert. 1975. Immunogenetics of LD determinants in man. In F. Kissmeyer-Nielsen (ed.): *Histocompatibility Testing 1975*, Munksgaard, Copenhagen, p. 526.
28. Grosse-Wilde, H., G. Hauptmann, R. Johannsen, B. Netzel, C. Rittner, and W. Ruppelt. 1977. Population data on two new HLA-D determinants, EI and RE. *Scand. J. Immunol.* 6:515.
29. Hauptmann, G., M.M. Tongio, H. Grosse-Wilde, and S. Mayer. 1977. Linkage between C2 deficiency and the HLA-A10,B18,DW2/BFS haplotype in a french family. *Immunogenetics* 4:557.
30. Hauptmann, G., E. Grosshans, and E. Heid. 1974. Lupus érythémateux aigus et déficits héréditaires en complément. A propos d'un cas par déficit complet en C4. *Ann. de Dermatol.* 101:479.
31. Hobart, M.J., and P.J. Lachmann. 1976. Allotyping of complement components in whole serum by iso-electric focusing in gel followed by specific haemolytic assay. *J. Immunol.* 116:1736.
32. Hyde, R.R. 1923. Complement-deficient guinea-pig serum. *J. Immunol.* 8:267.
33. Klemperer, M.R., H.C. Woodworth, F.S. Rosen, and K.F. Austen. 1966. Hereditary deficiency of the second component of complement (C2) in man. *J. Clin. Invest.* 45:880.
34. Klemperer, M.R., K.F. Austen, and F.S. Rosen. 1967. Hereditary deficiency of the second component of complement (C2) in man: Further observations on a second kindred. *J. Immunol.* 98:72.

35. Lachmann, P.J., D. Grennan, A. Martin, and P. Démant. 1975.
Identification of Ss protein as murine C4. *Nature (Lond.)* 258:242.
36. Leddy, J.P. R.C. Griggs, M.R. Klemperer, and M.M. Frank. 1975.
Hereditary complement (C2) deficiency with dermatomyositis.
Am. J. Med. 58:83.
37. Mayer, M.M. 1961. Complement and complement fixation. In E.A. Kabat
and M.M. Mayer (eds.): *Experimental Immunochemistry*, Charles C. Thomas,
Springfield, Illinois, 2nd ed., p. 133.
38. Meo, T., T. Krasteff, and D.C. Schreffler. 1975. Immunochemical
characterization of murine H-2 controlled Ss (Serum substance)
protein through identification of its human homologue as the
fourth component of complement. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 72:4536.
39. Meo, T., J. Atkinson, M. Bernoco, D. Bernoco, and R. Ceppellini. 1976.
Mapping of the HLA locus controlling C2 structural variants and
linkage disequilibrium between alleles C2² and BW15.
Eur. J. Immunol. 6:916.
40. Moore, H.D. 1919. Complement and opsonic functions in their relation to
immunity (A study of guinea-pigs naturally deficient in complement).
J. Immunol. 89:425.
41. Nerl, Ch., H. Grosse-Wilde, and G. Valet. 1977. Serum levels of the
second and fourth component of complement in HLA-Dw2 positive
healthy individuals. *Tissue Antigens.* 3:228.
42. Nerl, Ch., H. Grosse-Wilde, and G. Valet. 1978. Association of low
C2 and C4 serum levels with the HLA-Dw2 allele in healthy individuals.
J.Exp.Med. 148:704.
43. Nerl, Ch., H. Zander, and G. Valet. 1980. C2, C3, and C4 serum levels
in sibpair doublecase families with multiple sclerosis. In prep.
44. Ochs, H.D., S.I. Rosenfeld, E.D. Thomas, E.R. Giblett, C.A. Alper,
B. Dupont, J.G. Schaller, B.C. Gilliland, J.A. Hansen, and
R.J. Wedgewood. 1977. Linkage between the gene (or genes) controlling
synthesis of the fourth component of complement and the Major
Histocompatibility Complex. *N. Engl. J. Med.* 296:470.

45. O'Neill, G.J., S.Y. Yang, and B. Dupont. 1978. Two HLA-linked loci controlling the fourth component of human complement. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 75:5165.
46. O'Neill, G.J., S.Y. Yang, J. Tegoli, R. Berger, and B. Dupont. 1978. Chido and Rodgers blood groups are distinct antigenic components of human complement C4. *Nature*. 273:668.
47. Opelz, G., and M.M. Glosky. 1976. HLA antigen studies in a family with C2 deficiency. *J. Immunogen.* 3:303.
48. Osterland, C.K., L. Espinoza, L.P. Parker, and P.H. Schur. 1975. Inherited C2 deficiency and systemic lupus erythematosus: Studies on a family. *Ann. Int. Med.* 82:323.
49. Polley, M.J. 1971. Enhancement of hemolytic complement activity by treatment of human sera with iodine. *J. Immunol.* 107:1493.
50. Rittner, C., G. Hauptmann, H. Grosse-Wilde, E. Grosshans, M.M. Tongio, and S. Mayer. 1975. Linkage between HL-A (Major Histocompatibility Complex) and genes controlling the synthesis of the fourth component of complement. In F. Kissmeyer-Nielsen (ed.): *Histocompatibility Testing 1975*, Munksgaard, Copenhagen, p. 945.
51. Rosenfield, S.I., S. Ruddy, and K.F. Austen. 1969. Structural polymorphism of the fourth component of human complement. *J. Clin. Invest.* 48:2283.
52. Ruddy, S., M.R. Klemperer, F.S. Rosen, K.F. Austen, and J. Kumate. 1970. Hereditary deficiency of the second component of complement (C2) in man: Correlation of C2 haemolytic activity with immunochemical measurements of C2 protein. *Immunology* 18:943.
53. Ruppelt, W., H. Grosse-Wilde, and B. Netzel. 1976. Computer program for the evaluation and interpretation of MLC data. *Z. Immun.-Forsch.* 152:293.
54. Shevach, E.M., M.M. Frank, and I. Green. 1976. Linkage of the gene controlling the synthesis of the fourth component of complement to the Major Histocompatibility Complex of the guinea pig. *Immunogenetics* 3:595.
55. Silverstein, A.M. 1960. Essential hypocomplementemia: Report of a case. *Blood* 16:1338.

56. Sussmann, M., J.H. Jones, J.D. Almeida, and P.J. Lachmann. 1973. Deficiency of the second component of complement associated with anaphylactoid purpura and presence of mycoplasma in the serum. Clin. Exp. Immunol. 14:531.
57. Thomsen, M., P. Platz, O. Artved Andersen, M. Christy, J. L yngsøe, J. Nerup, K. Rassmussen, E.P. Ryder, L. Staub Nielsen, and A. Svejgaard. 1975. MLC typing in juvenile diabetes and idiopathic Addison's disease. Transplant. Rev. 22:125.
58. Teisberg, P., I. Aakesson, B. Olaisen, T. Gedde-Dahl jr., and E. Thorsby. 1976. Genetic polymorphism of C4 in man and localization of a structural C4 locus to the HLA gene complex of chromosome 6. Nature (Lond.) 264:253.
59. Terasaki, P.T., and J.D. McClelland. 1964. Microdroplet assay of human serum cytotoxins. Nature (Lond.) 204:198.
60. Valet, G., H. Hofmann, and G. Ruhenstroth-Bauer. 1976. The computer analysis of volume distribution curves. Demonstration of two erythrocyte populations of different mean volume in the young guinea pig and analysis of the mechanism of immune lysis of cells by antibody and complement. J. Histochem. Cytochem. 24:231.
61. Wild, J., N. Zvaifler, H. Müller-Eberhard, and C. Wilson. 1974. Deficiency of the second component of complement (C2) in a patient with discoid lupus erythematosus (DLE). J. Clin. Invest. 53:84a.
62. Wolski, K.P., F.R. Schmid, and K.K. Mittal. 1975. Genetic linkage between the HL-A system and a deficit of the second component (C2) of complement. Science 188:1020.
63. Wolski, K.P., F.R. Schmid, and K.K. Mittal. 1976. Genetic linkage between the HL-A system and a deficit of the second component (C2) of complement in four generations of a family. Tissue Antigens 7:35.
64. Ziegler, J.B., C.A. Alper, and H. Balner. 1975. Properdin factor B and histocompatibility loci linked in the rhesus monkey. Nature (Lond.) 254:609.

Am Ende dieser Arbeit möchte ich Herrn Prof.Dr.med. H. Grosse-Wilde, jetzt Essen, für die Überlassung des Themas, die vielfältigen Anregungen, und die immer großzügige Unterstützung danken.

Herrn Priv.Doiz.Dr.med. G. Valet (Max-Planck-Institut für Biochemie) möchte ich für die Betreuung des Komplementteils dieser Arbeit, sowie die vielen anregenden Diskussionen danken.

Mein Dank gilt auch:

Herrn Prof.Dr.med. E.D. Albert, München,
Herrn Priv.Doiz.Dr.med. J. Bertrams, Essen,
Herrn Prof.Dr.med. Ch. Rittner, Bonn, und
Herrn Dr.med. S. Scholz, München, ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Schließlich möchte ich Herrn Prof.Dr.med. G. Riethmüller, Vorstand des Instituts für Immunologie der Universität München, für die Bereitschaft danken, meine Arbeit im Fachbereich Medizin der Universität München zu vertreten.

Lebenslauf

Christoph Wilhelm Walter Nerl

Am 23.7.1948 geboren in Landsberg/Lech als Sohn des Arztes
Dr. Heinrich Nerl und seiner Ehefrau Anna-Maria, geb. Weitkamp

1954 - 1955 Volksschule in Landsberg/Lech

1956 - 1958 Volksschule in München

1958 - 1962 Altes Realgymnasium in München

1962 - 1967 Kurt-Huber-Gymnasium in Gräfelfing

1967 - 1968 Studium der Naturwissenschaften an der
Ludwig-Maximilians-Universität München

1969 - 1972 Studium der Humanmedizin Universität Köln

1973 - 1975 Studium der Humangenetik an der Ludwig-
Maximilians-Universität München
(Nebenfächer: Biochemie, Molekulargenetik
und Mikrobiologie)

1976 - 1978 Studium der Humanmedizin am Klinikum r.d. Isar
der Technischen Universität München, Staatsexamen

1976 - 1978 Tätigkeit im Hämatologischen Institut der GSF,
Abtl. Immunologie (Prof. Dr. S. Thierfelder)
Arbeitsgruppe Prof. Dr. H. Grosse-Wilde

1979 - 1980 Tätigkeit als Medizinalassistent

1980 Approbation als Arzt

